

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2002 年 1 月 24 日 (24.01.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/06505 A1

- (51) 国際特許分類⁷: C12P 7/64 メスク (ROXANA, Irimescu) [RO/JP]. 降旗清代美 (FURIHATA, Kiyomi) [JP/JP]. 泰 和彦 (HATA, Kazuhiko) [JP/JP]; 〒192-0906 東京都八王子市北野町559-6 日本水産株式会社 中央研究所内 Tokyo (JP). 山根恒夫 (YAMANANE, Tsuneo) [JP/JP]; 〒464-0071 愛知県名古屋市中種区若水3丁目22-1 Aichi (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/05718
- (22) 国際出願日: 2001 年 7 月 2 日 (02.07.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (74) 代理人: 須藤阿佐子 (SUDO, Asako); 〒184-0002 東京都小金井市梶野町5-6-3-103 Tokyo (JP).
- (26) 国際公開の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): AU, CA, CN, KR, US.
- (30) 優先権データ:
特願2000-213359 2000 年 7 月 13 日 (13.07.2000) JP (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本水産株式会社 (NIPPON SUISAN KAISHA, LTD.) [JP/JP]; 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目6番2号 Tokyo (JP). 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- (72) 発明者; および 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。
- (75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): ロクサナ イリ



WO 02/06505 A1

(54) Title: PROCESS FOR THE PRODCUTION OF GLYCERIDES WITH LIPASES

(54) 発明の名称: リパーゼを用いたグリセライドの製造方法

(57) Abstract: A process for producing 2-monoglycerides (2-MG) or triglycerides (TG), particularly triglycerides having in the sn-2 position highly unsaturated fatty acid (HUFA) residues, at an extremely high purity and a high efficiency. The process comprises conducting alcoholysis of a starting TG with a first 1,3 lipase to form 2-MG and introducing fatty acid residues to the 1- and 3-positions of the 2-MG by using a second 1,3 lipase to form TG. The fatty acid residue at the 2-position is preferably a residue of DHA, EPA or ARA. The first lipase refers to one which is selective for the 1- and 3-positions and can act even on a long-chain fatty acid in alcoholysis, while the second lipase refers to one which is selective for the 1- and 3-positions and can give TG through the reaction of 2-MG with a fatty acid ester or a free fatty acid.

[続葉有]



(57) 要約:

2-モノグリセライド (2-MG) またはトリグリセライド (TG)、特に sn-2 位に高度不飽和脂肪酸 (PUFA) 残基を有する TG を非常に高純度で高効率で製造する方法を提供する。

原料 TG を第一の 1, 3 リパーゼでアルコリシスして 2-MG を製造する。さらに得られた 2-MG に第二の 1, 3 リパーゼで 1, 3 位に脂肪酸残基を導入して TG を製造する。好ましくは、2 位の脂肪酸残基は DHA、EPA、ARA 残基である。ここで「第一のリパーゼ」とは 1, 3 位に選択的で、アルコリシスを行った場合に、鎖長の長い脂肪酸にも作用するリパーゼを、「第二のリパーゼ」とは 1, 3 位に選択的で、2-MG と脂肪酸エステルまたは遊離脂肪酸を反応させた場合に TG を生成するリパーゼを意味する。

明 細 書

リパーゼを用いたグリセライドの製造方法

5

技術分野

本発明はリパーゼを用いたグリセライドの製造方法に関する。より詳細には本発明は、リパーゼを用いた2-モノグリセライドまたはトリグリセライド、特にsn-2位に高度不飽和脂肪酸(PUFA)残基を有するトリグリセライド(TG)の製造方法に関する。

本発明において、「DHA」はドコサヘキサエン酸、「EPA」はエイコサペンタエン酸、「ARA」はアラキドン酸の略称として使用している。なお、DHA濃縮油脂、トリDHA-トリグリセライドという使い方の場合、ドコサヘキサエン酸残基の略称として使用している。

また、「MG」はモノグリセライド、「2-MG」は2-モノグリセライド、「TG」はトリグリセライドの略称として使用している。

また、「第一のリパーゼ」とは1、3位に選択的で、アルコリシスを行った場合に、鎖長の長い脂肪酸にも作用するリパーゼを意味する。

「第二のリパーゼ」とは1、3位に選択的で、2-MGと脂肪酸エステルまたは遊離脂肪酸を反応させた場合にTGを生成するリパーゼを意味する。

背景技術

1、3位に特異的なリパーゼを用いてTGの1、3位に任意の脂肪酸を導入する場合、一般的には目的脂肪酸でアシドリシスする、または目

的脂肪酸エステルをエステル交換するなどの方法が用いられる。しかし、この場合には非常に過剰量の脂肪酸やエステルを用いなければならず、また確率論的に一部は元の1, 3位の脂肪酸が残存するため目的構造脂質を高純度で得ることは比較的むづかしい。

- 5 さらにリパーゼによっては脂肪酸の鎖長に応じて活性が大きく変化し、DHAなどの長鎖脂肪酸に対する活性が著しく弱いため、目的の構造脂質を得られない場合もある。

- 10 また、リパーゼの反応には加水分解反応、エステル交換反応、アシドリシス、エステル化反応などが挙げられるが全てのリパーゼが何れの反応に対しても同条件で同程度の活性を示すわけではなく様々な特性のリパーゼが存在する。例えば、アシドリシスに対して強い活性を持った1, 3-リパーゼを利用すれば1, 3位の脂肪酸の置換に有利であるが、このリパーゼがDHAなどに対して十分な活性を持っていない場合には1, 15 3位にDHAが位置したTGから他の目的脂肪酸への置換は非常に困難となる。もちろん、アシドリシスに高活性でDHAにも活性の高いリパーゼを用いれば目的は達成できるがこのようなリパーゼは入手が困難であるか、極めて高価であるため工業的な用途に用いるのは好ましくない。

20

発明の開示

本発明は、2-MGまたはTG、特にsn-2位に高度不飽和脂肪酸(PUFA)残基を有するTGを非常に高純度で高効率で製造する方法の提供を目的としている。

25

本発明は、原料TGを第一の1, 3リパーゼでアルコリシスして2-

MGを製造することを特徴とするグリセライドの製造方法を要旨として
いる。

2位の脂肪酸残基がDHA、EPAまたはARA残基であり、その場
5 合、本発明は、原料TGを第一の1, 3リパーゼでアルコリスして2
位の脂肪酸残基がDHA、EPAまたはARA残基であるMGを製造す
ることを特徴とするグリセライドの製造方法である。

原料TGが高度不飽和脂肪酸を含有する油脂、好ましくはDHA濃縮
10 油脂、EPA濃縮油脂またはARA濃縮油脂であり、その場合、本発明
は、高度不飽和脂肪酸を含有する油脂、好ましくはDHA濃縮油脂、E
PA濃縮油脂またはARA濃縮油脂を第一の1, 3リパーゼでアルコリ
シスして2-MGを製造することを特徴とするグリセライドの製造方法
である。

15 上記の油脂が魚油であり、その場合、本発明は、魚油、好ましくはD
HA濃縮魚油、またはEPA濃縮魚油を第一の1, 3リパーゼでアルコ
リスして2-MGを製造することを特徴とするグリセライドの製造方
法である。

20 原料TGがトリDHA-TG、トリEPA-TG、またはトリARA
-TGであり、その場合、本発明は、トリDHA-TG、またはトリE
PA-TGを第一の1, 3リパーゼでアルコリスして2-MGを製造
することを特徴とするグリセライドの製造方法である。

25 また、本発明は、上記の2-MG、すなわち原料TGを第一の1, 3

リパーゼでアルコリスして得られる2-MGを経由し第二の1, 3-リパーゼで1, 3位に脂肪酸残基を導入することで目的TGを得ることを特徴とするグリセライドの製造方法を要旨としている。

5 2位の脂肪酸残基がDHA、EPAまたはARA残基であり、その場合、本発明は、原料TGを第一の1, 3リパーゼでアルコリスして得られる2位の脂肪酸残基がDHA、EPAまたはARA残基であるMGを経由し第二の1, 3-リパーゼで1, 3位に脂肪酸残基を導入することで目的TGを得ることを特徴とするグリセライドの製造方法である。

10

1, 3位に導入される脂肪酸残基が炭素数8, 10または12の中鎖飽和脂肪酸残基であり、その場合、本発明は、原料TGを第一の1, 3リパーゼでアルコリスして得られる2-MG、好ましくは2位の脂肪酸残基がDHA、EPAまたはARA残基であるMGを経由し第二の1, 3-リパーゼで1, 3位に炭素数8, 10または12の中鎖飽和脂肪酸残基を導入することで目的TGを得ることを特徴とするグリセライドの製造方法である。

15

原料TGが高度不飽和脂肪酸を含有する油脂、好ましくはDHA濃縮油脂、EPA濃縮油脂またはARA濃縮油脂であり、その場合、本発明は、高度不飽和脂肪酸を含有する油脂、好ましくはDHA濃縮油脂、EPA濃縮油脂またはARA濃縮油脂を第一の1, 3リパーゼでアルコリスして得られる2-MGを経由し第二の1, 3-リパーゼで1, 3位に脂肪酸残基を導入することで目的TGを得ることを特徴とするグリセライドの製造方法である。

20

25

上記の油脂が魚油であり、その場合、本発明は、魚油、好ましくはDHA濃縮魚油、またはEPA濃縮魚油を第一の1, 3リパーゼでアルコリスして得られる2-MGを経由し第二の1, 3-リパーゼで1, 3位に脂肪酸残基を導入することで目的TGを得ることを特徴とするグリセライドの製造方法である。

原料TGがトリDHA-TG、トリEPA-TG、またはトリARA-TGであり、その場合、本発明は、トリDHA-TG、トリEPA-TG、またはトリARA-TGを第一の1, 3リパーゼでアルコリスして得られる2-MGを経由し第二の1, 3-リパーゼで1, 3位に脂肪酸残基を導入することで目的TGを得ることを特徴とするグリセライドの製造方法である。

本発明のグリセライドの製造方法の好ましい態様は、原料TGを第一の1, 3リパーゼでアルコリスして得られる2-MGを経由し第二の1, 3-リパーゼで1, 3位に脂肪酸残基を導入することで目的TGを得ることを特徴とする。すなわち、本発明は、リパーゼの反応を二段階に分け、TGから第一の1, 3-リパーゼを用いてアルコリスによって2-MGを調製し、その後、1, 3位に導入したい脂肪酸の低級アルキルエステルまたは遊離脂肪酸を用いて第二の1, 3-リパーゼで2-MGのエステル化反応によってTGを調製する方法である。

本発明者らは、ある種のリパーゼがTGとの反応でアシドリシスや加水分解では望む結果が得られない場合であっても、アルコリスを行なうことにより、DHAなどリパーゼの作用しにくい脂肪酸が1, 3位にある場合でも、ほぼ完璧に1, 3位の脂肪酸を除去し2-MGを得るこ

とができることを発見した。ついで2-MGには1, 3位に導入したい脂肪酸のエステルまたは遊離脂肪酸を作用させることで目的の構造のTGを非常に高純度で高効率で得られることを発見し、これらの手順を順番に組み合わせることによって本発明を完成した。

5

第一段階で使用される第一のリパーゼは、1, 3位に選択的で、エタノリシス、メタノリシスなどのアルコリシスを行なった場合にDHAなどの鎖長の長い脂肪酸にも作用できるものであれば特に限定されない。この目的で利用できるリパーゼとして*Candida antarctica* リパーゼ（例えばNovozym 435 [ノボノルディスクバイオインダストリー(株)]）が好ましいものとして例示される。

10

15

第二段階で使用される第二のリパーゼは1, 3位に選択的で、2-MGと脂肪酸エステルまたは遊離脂肪酸を減圧下で反応させTGを生成できるのであれば特に限定されない。この目的で利用できるリパーゼとして*Rhizomucor miehei* リパーゼ（例えばLipzyme IM [ノボノルディスクバイオインダストリー(株)]）が好ましいものとして例示される。脂肪酸エステルとしてエチルエステルなどの低級アルキルエステルが例示される。

20

本発明の製造方法の最も好ましい態様は、原料TGをNovozym 435でアルコリシスして得られる2-MGを経由しLipzyme IMで1, 3位に脂肪酸残基を導入することで目的構造のTGを得ることを特徴とする。

25

原料TGは、好ましくは高度不飽和脂肪酸を含有する油脂であり、高

度不飽和脂肪酸はDHA、EPAまたはARAである。本発明の方法で
用いられる原料TGは例えば魚油であり、好ましくはDHA濃縮油脂、
またはトリDHA-TG、あるいはEPA濃縮油脂、またはトリEPA
-TG、あるいはARA濃縮油脂またはトリARA-TGである。本発
5 明の方法で用いられる1, 3位に導入される脂肪酸は好ましくは炭素数
8、10または12の飽和脂肪酸である。

本発明において原料のTGとして高度に精製されたDHAのみから構
成されるトリDHA-TGを用いた場合、高純度でX-DHA-X型の
10 TGを得ることが可能であり、これは従来のアシドリスと市販リパー
ゼの組み合わせでは調製が非常に困難である。また、このとき1, 3位
に導入する脂肪酸に炭素数8~12の中鎖脂肪酸を選択すれば吸収性に
優れたDHA含有TGを得ることができ乳児用の粉乳などに利用すれば
大きな効果が期待できる。

15

また、EPAを含有した構造脂質も同様に調製可能で吸収性の高いE
PA含有TGを得た場合にはEPAの持つ多くの生理活性を期待した食
品、医薬品などが期待できる。

20

さらに魚油にはもともとsn2位にDHAが局在していることが知ら
れており、本発明をDHA含量の比較的高いマグロ油やカツオ油に適用
すれば吸収性を増大させた栄養面に優れた油脂を得ることができる。ま
た、原料の魚油のDHA濃度をウィンタリングなどの手法で濃縮した魚
油を用いればさらにDHAを高含量とした目的の構造のTGが得られる。

25

リパーゼの反応を二段階に分け、第一段階でTGから第一の1, 3-

リパーゼを用いてアルコリシスすることで、DHAなどリパーゼの作用しにくい脂肪酸が1, 3位にある場合にも、ほぼ完ぺきに1, 3位の脂肪酸を除去し2-MGを得ることができる。

その後、第二段階で1, 3位に導入したい脂肪酸の低級アルキルエステルまたは遊離脂肪酸を用いて第二の1, 3-リパーゼで2-MGのエステル化反応をすることで、目的の構造のTGを非常に高純度で高効率で得ることができる。

10 発明を実施するための最良の形態

本願発明の詳細を実施例で説明する。本願発明はこれら実施例によって何ら限定されるものではない。

実施例 1

15 カツオ油1 g、エタノール3 g、Novozym 435 0.4 gを混合し、窒素気流下35℃で2時間攪拌した。反応後、反応混合物の脂質組成をイアトロスキャンにて測定した結果、エチルエステル69.5%、ジグリセライド2.3%、MG 28.3%でありTG、遊離脂肪酸は検出されなかった。薄層クロマトグラフィー分析の結果、MGは2-MGであることを確認した。またガスクロマトグラフィーにて脂肪酸組成を測定した結果、原料カツオ油のDHAは27.9%であったのに対し、MGのDHAは51.5%であった。

実施例 2

25 イワシ油を原料として、PUFAの濃縮を目的にアセトンを溶媒としたウインタリングを行い得られた油1 g、エタノール3 g、Novoz

y m 4 3 5 0.4 g を混合し、窒素気流下 35℃ で 3 時間攪拌した。
反応後、反応混合物の脂質組成をイアトロスキャンにて測定した結果、
エチルエステル 67.7%、ジグリセライド 1.9%、MG 30.4%
であり TG、遊離脂肪酸は検出されなかった。薄層クロマトグラフィー
5 分析の結果、MG は 2-MG であることを確認した。またガスクロマト
グラフィーにて脂肪酸組成を測定した結果、ウインタリング油の DHA
は 13.0% であったのに対し、MG の DHA は 28.8% であった。

実施例 3

10 グリセリン 0.184 g、水 0.184 g、Novozym 435
0.239 g を混合し 30 分間攪拌後、DHA 1.971 g を加え、6
0℃、3~5 mmHg の減圧下で一夜攪拌した。酵素を濾別し、反応混
合物をシリカゲルカラムで精製した結果、トリ DHA-TG 1.83 g
(純度 99%、収率 89%) を得た。

15 得られたトリ DHA-TG 0.102 g、エタノール 0.306 g、
Novozym 435 0.046 g を混合し 35℃、窒素気流中で 4
時間攪拌した。酵素を濾別し、グリセリド画分の組成をイアトロスキャ
ンで分析したところ、MG 92.7%、ジグリセライド 5.35%、T
G 1.96% であった。薄層クロマトグラフィーにより MG は 100%
20 2-MG であることを確認した。

実施例 4

実施例 3 と同様に操作して得られた反応混合物から酵素を濾別後残存
するエタノールを減圧下留去したもの全量に、オクタン酸エチル 0.3
25 45 g、水 0.010 g、Lipozyme IM 0.050 g を加
え、窒素気流下 35℃ で 30 分間攪拌した。次いで真空ポンプで反応容

器を3～5 mmHgに減圧し、35℃で3.5時間攪拌を継続した。得られた反応混合物のグリセリド画分の組成をガスクロマトグラフィーおよび銀イオンカラム高速液体クロマトグラフィーにより分析した結果、2位にDHA、1、3位にオクタン酸を有するTGが81.4%含まれていた。

実施例 5

実施例3と同様に操作して得られた反応混合物から分画して得られた2-DHA-MG 0.040gに、オクタン酸0.289g、水0.010g、Lipozyme IM 0.050gを加え、窒素気流下35℃で30分間攪拌した。次いで真空ポンプで反応容器を3～5 mmHgに減圧し、35℃で3.5時間攪拌を継続した。得られた反応混合物のグリセリド画分の組成をガスクロマトグラフィーおよび銀イオンカラム高速液体クロマトグラフィーにより分析した結果、2位にDHA、1、3位にオクタン酸を有するTGが78.8%含まれていた。

実施例 6

グリセリン0.184g、水0.184g、Novozym 435 0.239gを混合し30分間攪拌後、EPA 1.815gを加え、60℃、3～5 mmHgの減圧下で一夜攪拌した。酵素を濾別し、反応混合物をシリカゲルカラムで精製した結果、トリEPA-TG 1.74g（純度99%、収率92%）を得た。

得られたトリEPA-TG 0.094g、エタノール0.283g、Novozym 435 0.038gを混合し35℃で4時間攪拌した。酵素を濾別し、グリセリド画分の脂質組成をイアトロスキャンで分析したところ、MG 98.5%、ジグリセライド5.35%、TG 0.42

%であった。薄層クロマトグラフィーによりMGは100%2-MGであることを確認した。

実施例 7

- 5 実施例 6 と同様に操作して得られた反応混合物から酵素を濾別後残存するエタノールを減圧下留去したものの全量に、デカン酸エチル 0.400 g、水 0.010 g、Lipozyme IM 0.050 g を加え、窒素気流下 35℃ で 30 分間攪拌した。次いで真空ポンプで反応容器を 3～5 mmHg に減圧し、35℃ で 3.5 時間攪拌を継続した。反応後
- 10 得られたグリセリド画分の組成をガスクロマトグラフィーおよび銀イオンカラム高速液体クロマトグラフィーにより分析した結果、2 位に EPA, 1、3 位にデカン酸を有する TG が 72.7% 含まれていた。

実施例 8

- 15 実施例 6 と同様に操作して得られた反応混合物から分画して得られた 2-EPA-MG 0.037 g に、デカン酸 0.345 g、水 0.010 g、Lipozyme IM 0.050 g を加え、窒素気流下 35℃ で 30 分間攪拌した。次いで真空ポンプで反応容器を 3～5 mmHg に減圧し、35℃ で 3.5 時間攪拌を継続した。反応後得られたグリセリ
- 20 ド画分の組成をガスクロマトグラフィーおよび銀イオンカラム高速液体クロマトグラフィーにより分析した結果、2 位に EPA, 1、3 位にデカン酸を有する TG が 70.6% 含まれていた。

25 産業上の利用可能性

目的の構造の TG、特に sn-2 位に PUFA を有する TG を非常に高

純度で高効率で製造する T G の製造方法を提供することができる。

また、目的の構造の T G 製造のための中間体として特に有用な 2 - M G を製造する方法を提供することができる。

5

10

15

20

25

請 求 の 範 囲

1. 原料トリグリセライドを第一の1, 3リパーゼでアルコリシスして2-モノグリセライドを製造することを特徴とするグリセライドの製造方法。

2. 原料トリグリセライドを第一の1, 3リパーゼでアルコリシスして得られる2-モノグリセライドを経由し第二の1, 3-リパーゼで1, 3位に脂肪酸残基を導入することで2位に原料トリグリセライド由来の脂肪酸残基を有し、1, 3位に新たに導入した同一の脂肪酸残基を有する構造のトリグリセライドを得ることを特徴とするグリセライドの製造方法。

3. 2位の脂肪酸残基がDHA、EPAまたはARA残基である請求項2のグリセライドの製造方法。

4. 1, 3位に導入される脂肪酸残基が炭素数8、10または12の中鎖飽和脂肪酸残基である請求項2または3のグリセライドの製造方法。

5. 原料トリグリセライドが高度不飽和脂肪酸を含有する油脂である請求項1ないし4いずれかのグリセライドの製造方法。

6. 上記の油脂がDHA濃縮油脂、EPA濃縮油脂またはARA濃縮油脂である請求項5のグリセライドの製造方法。

7. 上記の油脂が魚油である請求項5または6のグリセライドの製造方法。

8. 原料トリグリセライドがトリDHA-トリグリセライド、トリEPA-トリグリセライド、またはトリARA-トリグリセライドである請求項1または2のグリセライドの製造方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05718

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C12P7/64

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12P7/64

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	Irimescu R. et al., "Utilization of reaction medium-dependent regiospecificity of Candida antarctica lipase (Novozym 435) for the synthesis of 1,3-dicapryloyl-2-docosahexaenoyl (or eicosapentaenoyl) glycerol", Journal of the American Oil Chemists' Society, March, 2001, Vol.78, No.3, pages 285 to 289	1-8
A	Schmid U. et al., "Optimization of the reaction conditions in the lipase-catalyzed synthesis of structured triglycerides", Journal of the American Oil Chemists' Society, (1998), Vol.75, No.11, pages 1527 to 1531	1-8
A	Irimescu R. et al., Enzymatic synthesis of 1,3-dicapryloyl -2-eicosapentaenoylglycerol", Journal of the American Oil Chemists' Society, May, 2000, Vol.77, No.5, pages 501 to 506	1-8
A	Breivik H. et al., "Preparation of highly purified concentrates of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid", Journal of the American Oil Chemists' Society, (1997), Vol.74, No.11,	1-8

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
21 September, 2001 (21.09.01)Date of mailing of the international search report
02 October, 2001 (02.10.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05718

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	pages 1425 to 1429	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12P7/64

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12P7/64

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	Irimescu R. et al., Utilization of reaction medium-dependent regiospecificity of Candida antarctica lipase (Novozym 435) for the synthesis of 1,3-dicapryloyl-2-docosaheptaenoyl (or eicosapentaenoyl) glycerol, Journal of the American Oil Chemists' Society, Mar. 2001, Vol. 78, No. 3, p. 285-289	1-8
A	Schmid U. et al., Optimization of the reaction conditions in the lipase-catalyzed synthesis of structured triglycerides, Journal of the American Oil Chemists' Society, 1998, Vol. 75, No. 11, p. 1527-1531	1-8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

21.09.01

国際調査報告の発送日

02.10.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

深草 亜子



4B

9548

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Irimescu R. et al., Enzymatic synthesis of 1,3-dicapryloyl-2-eicosapentaenoylglycerol, Journal of the American Oil Chemists' Society, May 2000, Vol. 77, No. 5, p. 501-506	1 - 8
A	Breivik H. et al., Preparation of highly purified concentrates of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, Journal of the American Oil Chemists' Society, 1997, Vol. 74, No. 11, p. 1425-1429	1 - 8